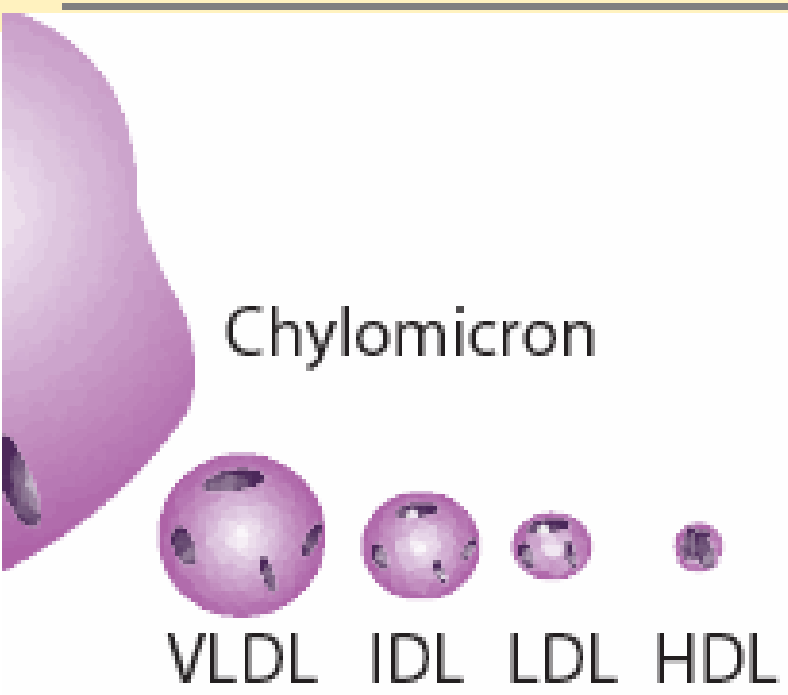
PRÁCTICA 11:
Cuantificación de lípidos por método espectrofométrico

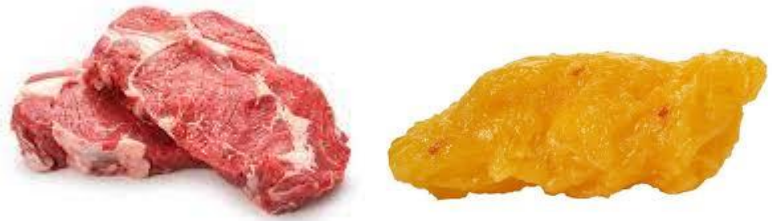
II Semestre, 2025

TEC | Tecnológico de Costa Rica

TABLE 21-2 Major Classes of Human Plasma Lipoproteins: Some Properties

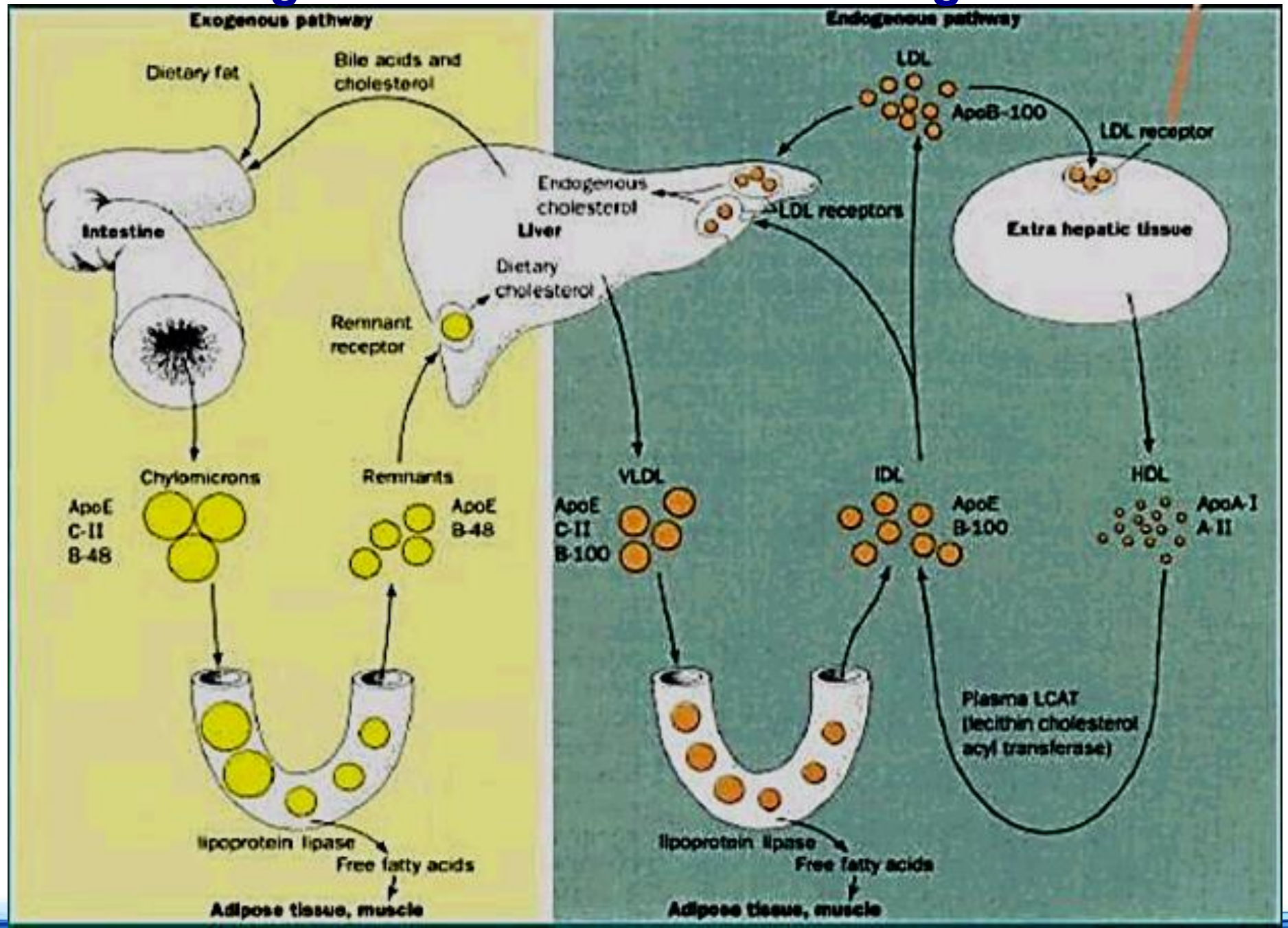
		Composition (wt %)				
Lipoprotein	*Density (g/mL)*	*Protein*	*Phospholipids*	*Free cholesterol*	*Cholesteryl esters*	*Triacylglycerols*
Chylomicrons	<1.006	2	9	1	3	85
VLDL	0.95–1.006	10	18	7	12	50
LDL	1.006–1.063	23	20	8	37	10
HDL	1.063–1.210	55	24	2	15	4





Exógeno

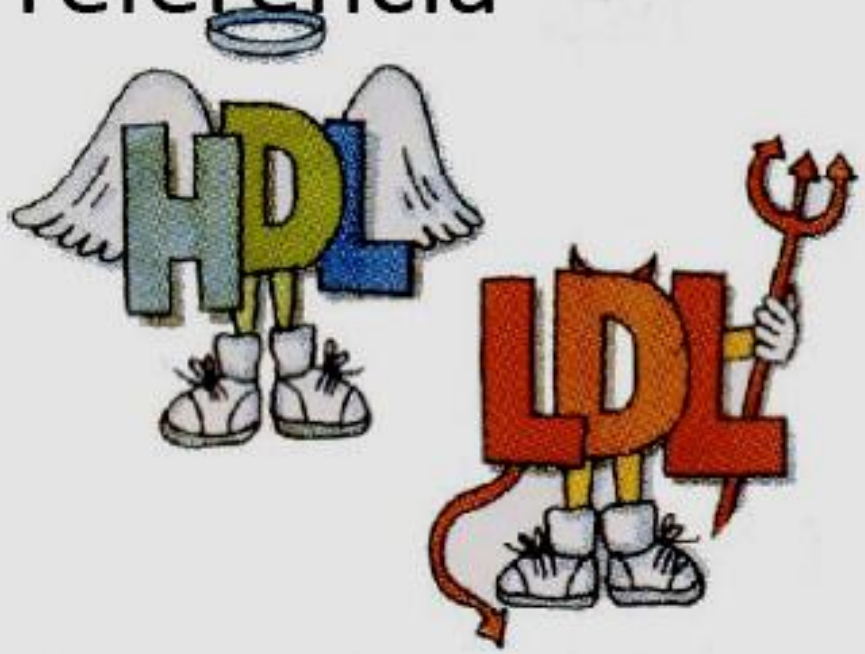
Endógeno



Valores de referencia

- HDL Colesterol (mg/dL)
  - Hombre > 55 mg/dl
  - Mujer > 65 mg/dl

- LDL Colesterol (mg/dl)
  - <100 Optimo
  - 100-129 Sobre el óptimo
  - 130-159 Límite alto
  - 160-189 Alto
  - >190 Muy alto



•Triglicéridos:
<150 Óptimo.

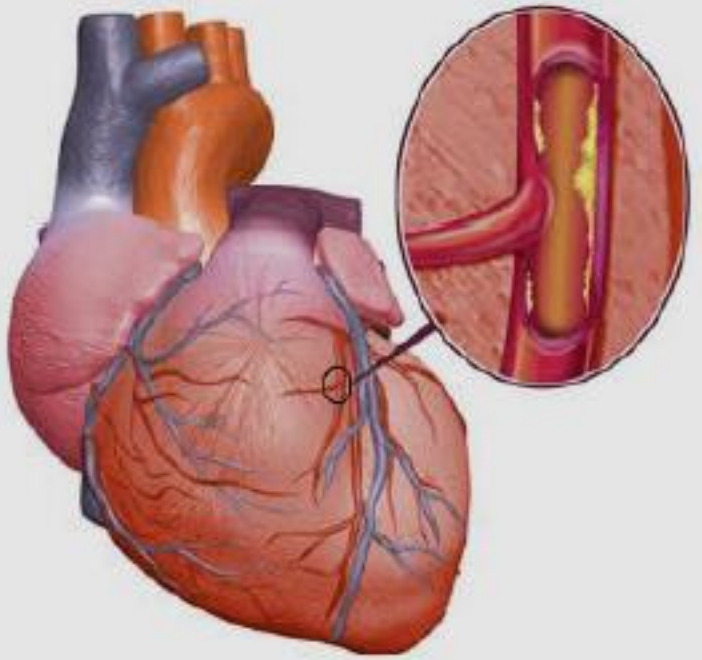
Valores de referencia

- Colesterol Total (mg/dl)
  - <200 Deseable
  - 200-239 Moderado
  - >240 Alto

Índice de Castelli:

Col total/HDL

<3,5



Consecuencias del depósito de lípidos en las arterias

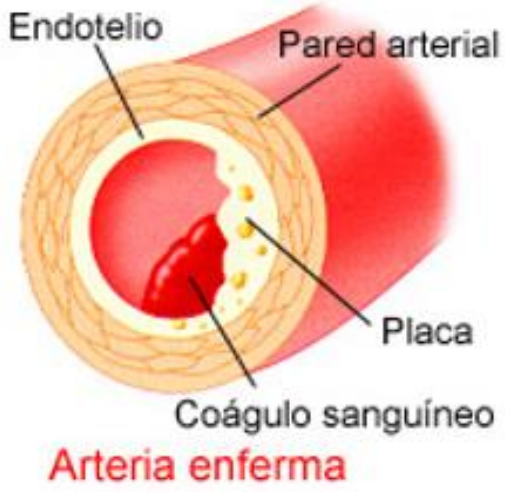
Placa aterosclerótica

Agregación plaquetaria

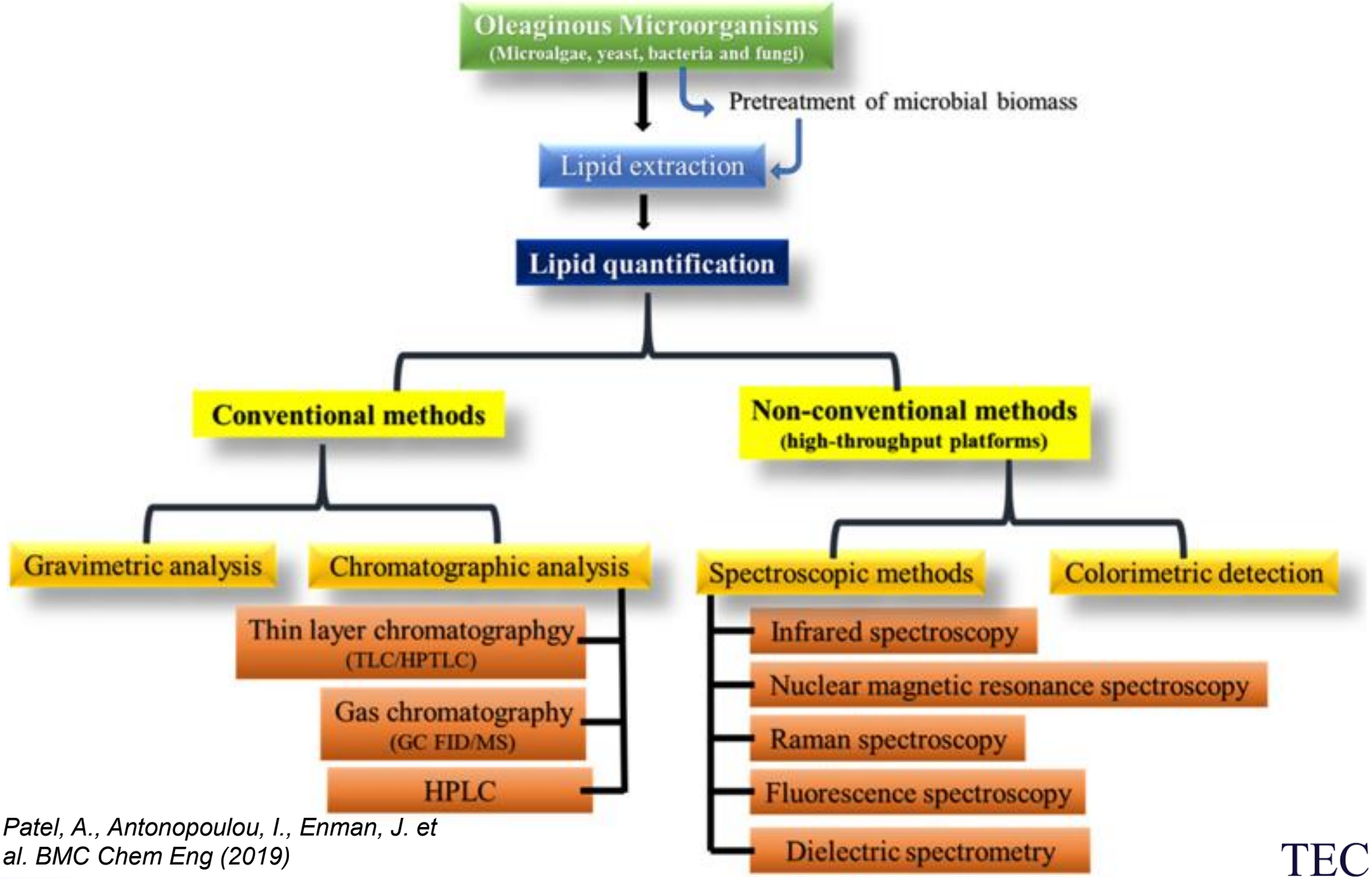
Coagulación sanguínea

Trombosis

Isquemia tisular



- ApoB100
- Lipoproteína A
- LDL oxidadas
- Receptores de LDL / scavengers
- Células espumosas



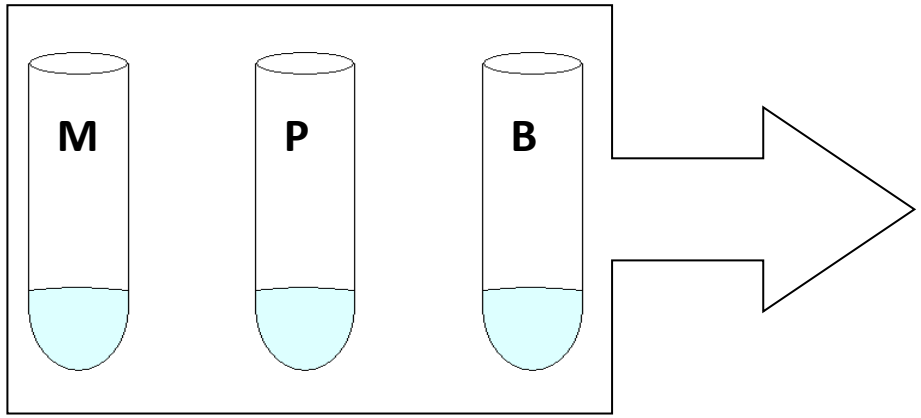
Patel, A., Antonopoulou, I., Enman, J. et al. BMC Chem Eng (2019)

Cuantificación de Triacilglicéridos

- Triacilglicéridos + 3 H_2O $\xrightarrow{\text{Lipasa}}$ Glicerol + 3AG
- Glicerol + ATP $\xrightarrow{\text{Glicerol kinasa}}$ Glicerol 3P + ADP
- G3P+O_2 $\xrightarrow{\text{Glicerol Fosfato Oxidasa}}$ Dihidroxiacetona P+H_2O_2*
- H_2O_2+4aminofenazona+Fenol $\xrightarrow{\text{Peroxidasa}}$ 4p-benzaquinona mono iminofenazona + 4H_2O

  - *Reacción de Trinder
  - 1- Hidrólisis de TG
  - 2- Cuantificar Glicerol

TRIGLICÉRIDOS (Técnica GPO-Trinder)



+10µl Muestra +10µl Patrón +10µl H_2O

1 ml de reactivo de triglicéridos a cada uno.

Preincubar todos 5´ a 37°C

Incubar todos 5´ a 37°C

Leer a λ 500 nm

Cálculos:

$$\frac{\text{Ab Muestra}}{\text{Ab Patrón}} * \text{[ ] Patrón} = \text{[ ] TAG}$$

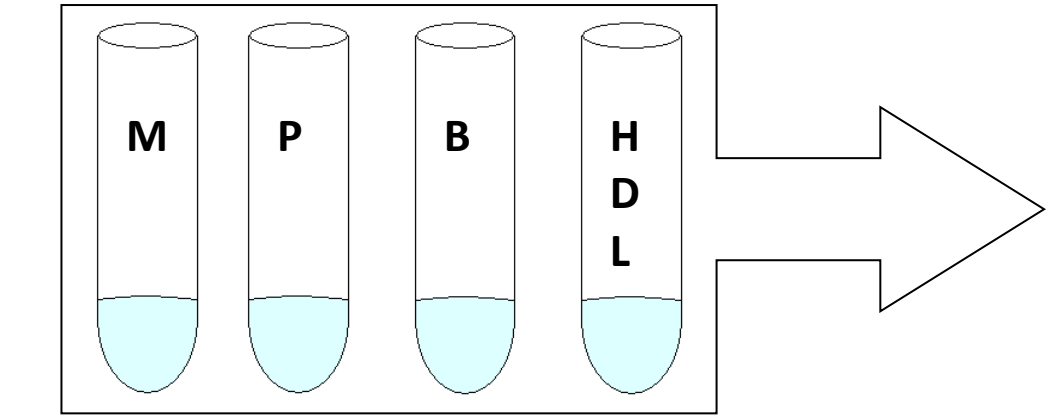
Determinación de HDL-Colesterol

- Reactivo precipitante { Cloruro de magnesio, Ácido fosfotúnstico

Actúa → LDL, VLDL → Complejos insolubles

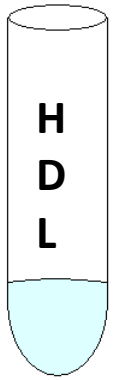
→ Sobrenadante = HDL

Técnica Colesterol y HDL-colesterol



2do Paso: 1 ml de reactivo enzimático a cada uno.

Preincubar todos 5´ a 37°C



1er Paso: 250 µl muestra +
250 µl reactivo precipitante
Centrifugar a 3000rpm 10´

Cálculos (mg/dl):

[ ] Colesterol= $DO_M/DO_P * [\ ]\ P$

[ ] HDL= DO_M/DO_P * 43,6

Determinación de Colesterol Total

1. Ésteres de colesterol $\xrightarrow{\text{Colesterol esterasa}}$ Colesterol libre
2. Colesterol $\xrightarrow{\text{Colesterol oxidasa}}$ Colesten 3 ona + H_2O_2
3. Reacción de Trinder

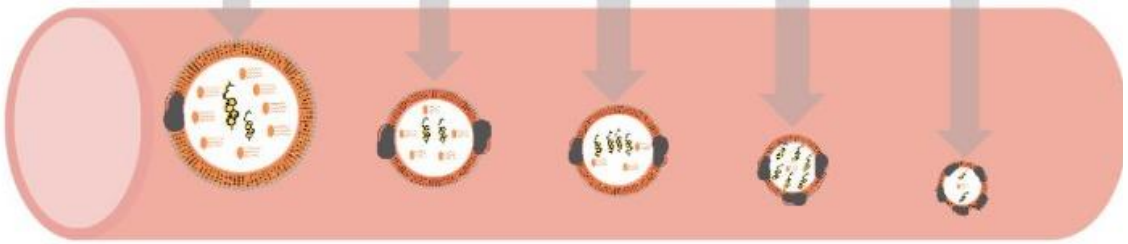
$2H_2O_2$ + 4 Aminofenazona + fenol $\xrightarrow{\text{Peroxidasa}}$ 4-(o-benzoquinonamonoimino) fenazona + $4H_2O$

PERFIL LIPÍDICO:

El perfil lipídico o panel lipídico, es un examen de sangre para analizar los niveles de lípidos en aquellas personas con riesgo cardiovascular. Los lípidos son grasas que no pueden disolverse en la sangre.

Tanto los Triglicéridos como el Colesterol, son transportados en la sangre mediante unas partículas :Las lipoproteinas transportadoras: Quilomicrones, VLDL, IDL; LDL y HDL

	QUILOMICRON	VLDL	iDL	LDL *	HDL
	Lipoproteina formada para transportar las grasas dietéticas	lipoproteina de muy baja densidad	lipoproteina de densidad intermedia	lipoproteina de baja densidad	lipoproteina de alta densidad
Triglicéridos	80 %	50-55%	25%	5 %	5 %
Colesterol	1-10 %	20 %	35 %	60 %	20 %
Apoproteinas principales	B48, AI	B100	B100, E	B 100	AI



MENOR DENSIDAD MENOR PESO.....PERO más grandes

Cuanta mayor densidad tiene una Lipoproteina,significa que su contenido en proteinas es mayor, y por tanto, pesa más.

MAYOR DENSIDAD MAYOR PESO.....PERO más pequeñas

VALORES DE LÍPIDOS mg/dl

recomendaciones en adultos sanos.

COLESTEROL TOTAL :
hasta 200

LDL: < 100

HDL: ≥ 50

TRIGLICERIDOS (TG):
hasta 200

LIPOPROTEINAS LDL *

EXISTEN VARIOS SUBTIPOS:

- LDL I, LDL II → "BUENAS"
- LDL III, LDL IV → "MALAS" *

RATIOS DE VALORACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR

TG / HDL: proporción ideal 1:1, máximo 2:1

- ≤ 2 Ideal.
- 2-4 Riesgo medio.
- ≥ 4 Riesgo de Resistencia a la Insulina y Síndrome metabólico.

* si la proporción es mayor de 2, aumenta la probabilidad de que existen mayor numero de particulas LDL tipo 3 y 4

COLESTEROL TOTAL / HDL:

ÍNDICE ATEROGÉNICO (CASTELLI)

Nos ayuda a entender si se está almacenando más colesterol del necesario en nuestras células .

< 4,2 ideal

LDL / HDL:

Nos ayuda a entender si se está almacenando más colesterol del necesario en nuestras células .

LDL/HDL < 2,5 ideal

COLESTEROL NO HDL:

Se utiliza para la estimación de la cantidad total de lipoproteínas aterogénicas en plasma. Se calcula restando al valor de Colesterol total, el valor de HDL.

El nivel óptimo de colesterol no HDL debe ser inferior a 130 mg/dL.

COLESTEROL TOTAL — HDL

OTROS PARAMETROS IMPORTANTES

APO AI: APOLIPOPROTEINA A I

Es una de las proteinas principales de HDL, y es un marcador anti-aterogénico.
Optimo: Mayor de 130 mg/dL.

APO B 100: APOLIPOPROTEINA B 100

Es la proteina principal de las lipoproteinas LDL, IDL y VLDL, . Es un marcador aterogénica
La Apolipoproteina B 100, siempre se encuentra más elevada que la APO-AI en pacientes con enfermedades cardiovasculares.
Optimo: Inferior a 90 mg/dL.

PROTEINA C REACTIVA:

Proteína de fase aguda producida por el hígado en procesos infecciosos o inflamatorios.
La inflamación en la pared de los vasos provoca un aumento de la PCR que puede indicar el desarrollo de ateroesclerosis.
Valores normales Óptimos: Menor de 1,0 mg/L.

HOMOCISTEINA:

Es un aminoácido cuyos valores en exceso, pueden influir en el desarrollo de ateroesclerosis favoreciendo la formación de placas y coagulación sanguínea.
Si los valores son muy elevados, se recomienda suplementar con Ácido Fólico y Vitamina B12
Valores Homocisteina :Optimo: Entre 5 y 15 µmol/L.

TEC | Tecnológico de Costa Rica